

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА, КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ, МЕХАНИЗМ ЦИТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ И ВКЛАД ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП В АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ФЛАВОНОИДОВ

ВЕЙКО А.Г.

Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №5. – С. 27-39.

MOLECULAR STRUCTURE, QUANTUM-CHEMICAL PARAMETERS, MECHANISM OF CYTOPROTECTIVE EFFECT AND THE CONTRIBUTION OF FUNCTIONAL GROUPS TO ANTIOXIDANT POTENTIAL OF FLAVONOIDS

VEIKO A.G.

Grodno State University named after Yanka Kupala, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(5):27-39.

Резюме.

Известно, что многочисленные заболевания (воспаление, диабет, сосудистые поражения и др.) связаны с повышенным уровнем окислительного стресса и, как следствие, с многочисленными метаболическими нарушениями. В связи с этим в биохимии, медицине и фармации продолжается поиск эффективных и в то же время безопасных синтетических и натуральных антиоксидантов для профилактики патологий, опосредованных повышенным уровнем окислительных процессов и активных форм кислорода (АФК). Растительные компоненты, такие как флавоноиды, способны оказывать выраженный антиоксидантный эффект, проявлять благоприятные фармакологические и биохимические эффекты.

В настоящем исследовании проведена сравнительная оценка квантово-химических параметров и антиоксидантной активности ряда флавоноидов различных классов (катехин, кверцетин, нарингенин), отличающихся молекулярной структурой и имеющих различные функциональные группы в модельной системе.

Флавоноиды препятствовали развитию пероксидации липидов мембран эритроцитов крыс, индуцируемой трет-бутилгидропероксидом (ТБГП). Эффективная концентрация IC_{50} ингибирования этого процесса равна: в случае кверцетина $9,74 \pm 0,8$ мкМ, катехина $8,84 \pm 0,7$ мкМ, нарингенина $46,8 \pm 4,4$ мкМ. Флавоноиды также частично ингибировали окисление глутатиона в цитоплазме эритроцитов.

В статье представлен анализ химических структур флавоноидов катехина, кверцетина, нарингенина на основе молекулярного моделирования и квантово-химических расчетов.

Полученные данные можно применять для оценки биологического потенциала молекул, имеющих схожие функциональные группы и структурные особенности, и при проведении фармакологического скрининга биологически активных соединений.

Ключевые слова: флавоноиды, молекулярная структура, квантовая химия, функциональные группы, антиоксиданты.

Abstract.

Numerous diseases (inflammation, diabetes, vascular lesions, etc.) are known to be associated with an increased level of the oxidative stress, and as a consequence, with metabolic disorders.

In this connection, in biochemistry, medicine and pharmacy, the search for effective and safe synthetic and natural antioxidants for the prevention of pathologies, mediated by an excess of oxidative processes and reactive oxygen species (ROS), is the important task.

Plant components, such as flavonoids, can produce pronounced antioxidant effect, and demonstrate beneficial

pharmacological and biochemical activities.

In the present study, a comparative assessment of the quantum-chemical parameters and antioxidant activity of a number of flavonoids (catechin, quercetin, naringenin), differing in their molecular structure and having various functional groups in a model system has been made.

The flavonoids prevented the development of lipid peroxidation of rat erythrocyte membranes, induced by tert-butylhydroperoxide (tBHP). The effective concentration IC₅₀ of inhibition of this process is: in case of quercetin 9.74±0.8 µM, catechin 8.84±0.7 µM, naringenin 46.8±4.4 µM. The flavonoids also partially inhibited glutathione oxidation in the erythrocyte cytoplasm.

The article presents an analysis of the chemical structures of the flavonoids: catechin, quercetin, and naringenin based on molecular modelling and quantum-chemical calculations.

The obtained results can be used to evaluate the biological potential of molecules with similar functional groups and structural features, as well as to conduct further research and to do pharmacological screening of biologic active compounds.

Key words: flavonoids, molecular structure, quantum chemistry, functional groups, antioxidants.

Длительное воздействие высоких концентраций активных форм кислорода (АФК) приводит к неспецифическому повреждению клеточных компонентов. И, как следствие, большинство заболеваний, связанных с метаболическими нарушениями, демонстрируют повышение уровня биомаркеров окислительного стресса [1]. Хорошо известно, что сердечно-сосудистые [2], нейродегенеративные [3], метаболические [4] и воспалительные заболевания [5] связаны с повышенным уровнем окислительных процессов (рис. 1).

Коррекция окислительного стресса и терапия АФК – опосредованных заболеваний возможна путем введения дополнительных антиоксидантов. В этом плане флавоноиды, вторичные метаболиты растений, представляются весьма перспективными. Флавоноиды, вступая в окислительно-восстановительные реакции, восстанавливают высокореакционные АФК, при этом образующиеся продукты окислительно-восстановительных реакций обладают значительно меньшей реакционной способностью и токсичностью. Особые качества флавоноидов делают



Рисунок 1 – Заболевания, связанные с гиперпродукцией АФК [6].

эти натуральные диетические пигменты перспективными соединениями для лечения и / или профилактики многих типов заболеваний. Многочисленные исследования демонстрируют высокий клинический потенциал флавоноидов [7].

Мы выбрали 3 флавоноида, представляющих различные классы этой группы растительных полифенолов, которые наиболее изучены и которые широко представлены в растительной диете: флавонолы (кверцетин), флаванолы (катехин) и флаваноны (нарингенин). В основе этих флавоноидов находится циклический углеводородный дифенилпропановый остов, образованный двумя ароматическими кольцами А и В, связанными тремя атомами углерода или замкнутой цепью в гексагональный или пятиугольный оксигенированный гетероцикл С. В зависимости от функциональных групп и их типа флавоноиды проявляют различные биохимические эффекты [8].

Нарингенин – флавонон, является предшественником кверцетина при биосинтезе у растений [8], проявляет антиоксидантные, противовоспалительные, антиатерогенные свойства, обладает антибактериальной активностью по отношению к некоторым штаммам [9]. Нарингенин является ингибитором изоформы CYP1A2 цитохрома P450 и способен значительно изменять фармакинетику многих лекарств [10], является гепатопротектором с антифиброгенными и противовоспалительными свойствами, способен предотвращать развитие цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы печени [11].

Катехин – флавонол, отличается дигидропирановым гетероциклом и отсутствием карбонильной группы. Катехин может оказывать влияние на эндотелий-зависимую вазодилатацию [12] и тем самым способствовать нормализации кровотока. Катехины являются акцепторами АФК, способны стимулировать индукцию антиоксидантных ферментов и ферментов детоксикации фазы II [13]. Количество ОН-групп в молекуле катехина равно 5, что на 2 больше, чем у нарингенина, и соответствует их количеству у кверцетина. Отсутствуют ненасыщенные связи и сопряжение в гетероцикле С, из-за чего структура молекулы катехина более подвижна и может изгибаться за счет свободно вращающегося кольца В. Основным отличием нарингенина от катехина является: отсутствие двух гидроксильных групп (в положениях С3 и С3') и наличие карбонильной группы в центральном кольце С. От кверцетина нарингенин отличается также отсутствием двух гидроксильных групп (в положениях С3 и С3') и

двойной связи в центральном кольце С (С2-С3).

Кверцетин (3, 3', 4', 5, 7-пентагидроксифлавонон), основной флавоноид, содержащийся во фруктах и овощах, обладает уникальными биологическими свойствами [14]. Кверцетин отличается от нарингенина и катехина наличием характерной двойной связи в центральном кольце С2=С3. Также у кверцетина на 2 гидроксильные группы больше, чем у нарингенина. У кверцетина и катехина количество гидроксильных групп совпадает, но в кверцетине дополнительно присутствует карбонильная группа. Описан широкий спектр благоприятных эффектов кверцетина, включая антимуtagenное, антифибротическое, противовоспалительное, антидиабетическое и антибактериальное действие, а также его высокая антиоксидантная способность, имеются данные о его антигипертензивном эффекте на организм человека и улучшении функции эндотелия сосудов [15, 16]. Кверцетин способен индуцировать апоптоз многих линий раковых клеток и контролировать их рост регуляцией специфических сигнальных путей, например снижением экспрессии некоторых генов в злокачественных клетках и ингибированием ангиогенеза [17]. Благодаря своим антипролиферативным и проапоптотическим свойствам, кверцетин является многообещающим натуральным соединением, которое из-за высокого терапевтического потенциала может быть использовано в химиотерапии многих заболеваний [18].

Важно отметить, что рК многих флавоноидов сдвинут в кислотную сторону, и полифенолы при физиологическом рН, близком к нейтральному, находятся в ионизированной анионной форме. И, как следствие, для анионов флавоноидов свойственны реакции электрофильного присоединения и слабые электронакцепторные свойства. Ранее мы представили рассчитанные нами значения рК отдельных гидроксильных групп в молекуле кверцетина [19].

Антиоксидантные свойства и потенциальные терапевтические эффекты, точный механизм действия, метаболизм и возможная токсичность растительных полифенолов, корреляция молекулярной структуры и фармакологических эффектов представляют значительный интерес и широко исследуются в настоящее время. Знания о фармакофорах и установление корреляций квантово-химических параметров флавоноидов с биохимическими эффектами будут полезны для прогнозирования структуры потенциальных фитофармацевтических препаратов и для понимания механизмов биологических эффектов флавоноидов.

Целью нашей работы было сопоставление структур и молекулярных параметров флавоноидов, принадлежащих к различным классам, и оценка уровня их антиоксидантной активности, а также установление конформационных особенностей и функциональных групп, обуславливающих антиоксидантную активность флавоноидов.

Материал и методы

Реактивы

В работе использовали нарингенин (N5893, CAS Number: 67604-48-2), катехин (C1788, CAS Number: 7295-85-4), трет-бутил гидропероксид (458139, CAS Number: 75-91-2), производства Sigma-Aldrich, США, кверцетин (AC174070100, CAS Number: 849061-97-8), производства Acros Organics, США, 5,5'-дителиобис-(2-нитробензойную кислоту) (3M07839, CAS Number: 69-78-3), производства AppliChem GmbH, Германия, тиобарбитуровую кислоту (180160, CAS Number: 504-17-6), этанол (CAS Number: 64-17-5), натрий хлористый (130315, CAS Number: 7647-14-5), натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный (130295, CAS Number: 7558-80-7), натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный (130297, CAS Number: 7558-79-4) и другие реактивы квалификации Ч.Д.А. (ЛенРеактив / Реахим, Россия). Для приготовления растворов использовали бидистиллированную воду.

Методы

В работе использовали эритроциты самцов крыс линии Wistar с массой тела 200-240 г, содержащихся на стандартном рационе вивария Института биохимии биологически активных веществ НАН Беларуси. Образцы крови крыс получали после декапитации животных, эритроциты выделяли из гепаринизированной крови центрифугированием (1500 об / мин) и дважды промывали изотоническим солевым раствором (PBS, 145 mM NaCl, 1,9 mM NaH_2PO_4 , 8,1 mM Na_2HPO_4 , pH 7,4). Количество эритроцитов стандартизировали, определяя гематокрит суспензии. Эритроциты (10% гематокрит, PBS) подвергали воздействию 700 мкМ трет-бутилгидропероксида (ТБГП) в течение 50 минут при 20°C в отсутствие и в присутствии флавоноидов. Образующиеся конечные продукты перекисного окисления липидов мембран в эритроцитах крыс измеряли как соединения, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), до и после воздействия ТБГП

на клетки, используя молярный коэффициент поглощения $\epsilon_{532}=1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [20].

Уровень глутатиона (GSH) в эритроцитах определяли после 5 минут воздействия окислителя с использованием 5,5'-дителиобис-2-нитробензойной кислоты (реагент Элмана) и молярного коэффициента поглощения $\epsilon_{412}=13,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [21].

Компьютерное моделирование структуры флавоноидов выполняли в пакете вычислительных программ HyperChem 8.0 [22], который был получен в качестве пробной копии полнофункционального продукта. Квантово-химические расчеты параметров молекулярных структур флавоноидов получены с применением полуэмпирического метода AM1 (The Austin Model 1) и неэмпирического Ab initio с базисом 6-31G с использованием неограниченного метода Хартри-Фока (Unrestricted Hartree-Fock method, UHF) в приближении самосогласованного поля и алгоритма Polak-Ribiere, при которых рассчитывается оптимальная конформация молекулы с минимальным градиентом распределения энергии в вакууме [23, 24].

Все манипуляции с животными, выполненные в этом эксперименте, были одобрены Этическим комитетом Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (Протокол от 23.05.2016 г. № 29/16) и соответствуют Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для научных целей, руководству NIH по уходу и использованию лабораторных животных (NIH № 80 23; пересмотрен в 1978 году).

Статистическая обработка данных

Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение (SD). Экспериментальные данные проверяли на нормальность распределения критериями Лиллиефорса и Шапиро-Уилкса, а также на равенство дисперсий тестом Левина [25]. Достоверность различий между значениями величин результатов исследований были проанализированы с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Статистическая обработка данных выполняли в программе STATISTICA 6.0. Уровень значимости был установлен на уровне $p \leq 0,05$.

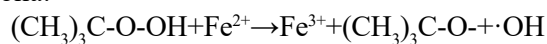
Результаты и обсуждение

Свойства флавоноидов и механизмы их биологических эффектов мы оценивали на основе

проявляемой антиоксидантной активности при моделировании нарушений окислительно-восстановительного баланса клеток крови, совмещая с анализом химической структуры полифенолов на основе квантово-химических расчетов.

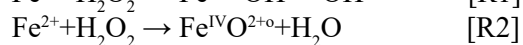
1. Антиоксидантная активность флавоноидов

На первом этапе мы сравнили антиоксидантную активность флавоноидов кверцетина, катехина и нарингенина, различающихся по молекулярной структуре и количеству ОН-групп (рис. 2), при индуцированном трет-бутилгидропероксидом перекисном окислении эритроцитов крыс. ТБГП широко используется в качестве модельного агента при оценке механизмов клеточных изменений, возникающих в результате окислительного стресса в клетках и тканях [26], и является сильным окислителем благодаря наличию в структуре пероксидной группы. В присутствии металлов переменной валентности, таких как железо, в том числе ион железа гема эритроцитов, в реакции перекисного окисления включаются радикальные процессы, протекающие с участием иона Fe^{2+} в реакции Фентона:



Несмотря на свою очевидную важность, механизм реакции Фентона до конца не изучен. Координационная сфера Fe^{2+} в определенных условиях влияет на конкуренцию между одноэлектронным переносом, создающим $\cdot\text{OH}$ -радикалы (механизм Габера – Вайсса) (реакцию R1), и

двухэлектронным окислением посредством переноса О-атома (механизм Брея – Горина)) в $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}^{2+}$, реакция R2 [27]:



В модели окислительного стресса, индуцируемого ТБГП, уровень продуктов перекисного окисления липидов эритроцитов в контроле равен $2,2 \pm 0,5$ нмоль/мл упакованных клеток (рис. 3). Окислительный стресс, вызванный внесением ТБГП и иницированием цепных окислительных реакций, повышал этот уровень до $21,7 \pm 1,2$ нМ. Применение полифенолов оказывало защитный эффект, уже при концентрациях 10 мкМ катехин и кверцетин снижали количество продуктов окисления более чем в два раза. В наших исследованиях катехин и кверцетин показывают себя как эффективные антиоксиданты. Нарингенин продемонстрировал менее выраженный протекторный эффект, что, наиболее вероятно, связано с количеством гидроксильных групп, которые, как указывают квантово-химические расчеты, весьма поляризованы и активно вовлекают молекулу в окислительно-восстановительные реакции. Напротив, кверцетин и катехин имеют равное количество гидроксильных групп. Ранее [28, 29] были выдвинуты предположения о важной роли гидроксильных групп флавоноидов в формировании антиоксидантного потенциала молекулы. Кверцетин проявил себя более эффективным антиоксидантом при перекисном окислении липидов по сравнению с катехином, при равном количестве гидроксильных групп и близком значении

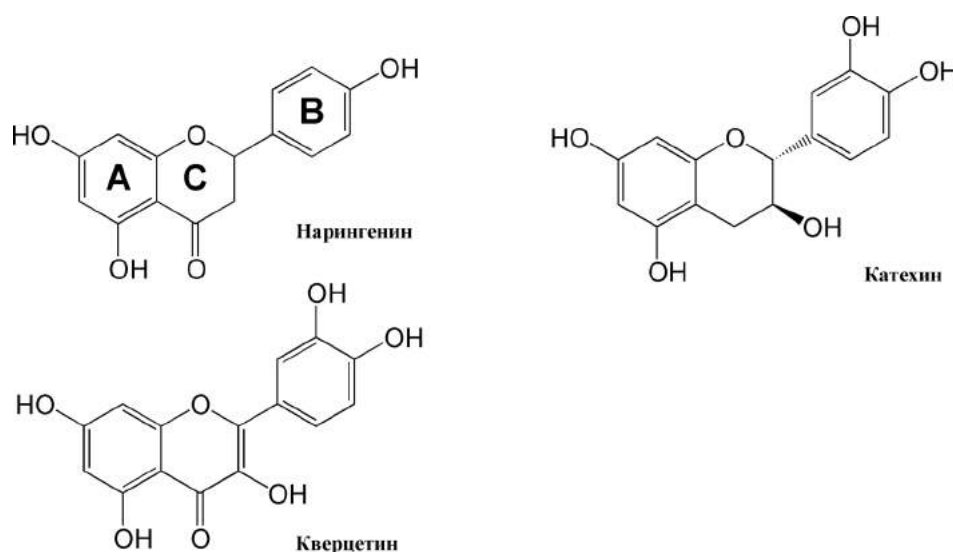


Рисунок 2 – Структурные формулы исследуемых полифенолов.

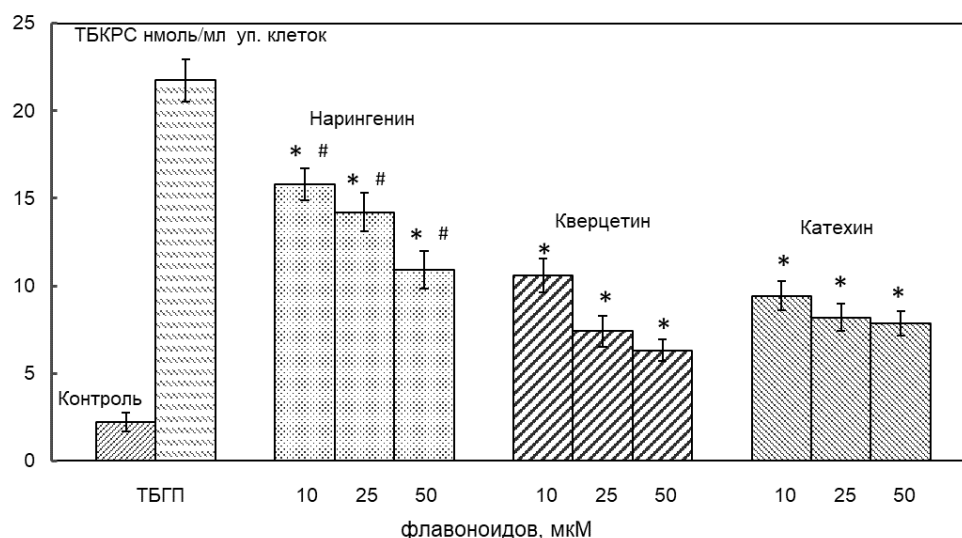


Рисунок 3 – Накопление продуктов перекисного окисления липидов ТБКРС в эритроцитах крыс (10% гематокрита в PBS) при воздействии ТБГП (700 мкМ) в присутствии нарингенина, кверцетина и катехина:

* – $p < 0,05$ по сравнению с эритроцитами, подвергавшимися воздействию ТБГП в отсутствие флавоноидов;

– $p < 0,05$ по сравнению с эритроцитами, подвергавшимися воздействию ТБГП в присутствии аналогичной концентрации других флавоноидов.

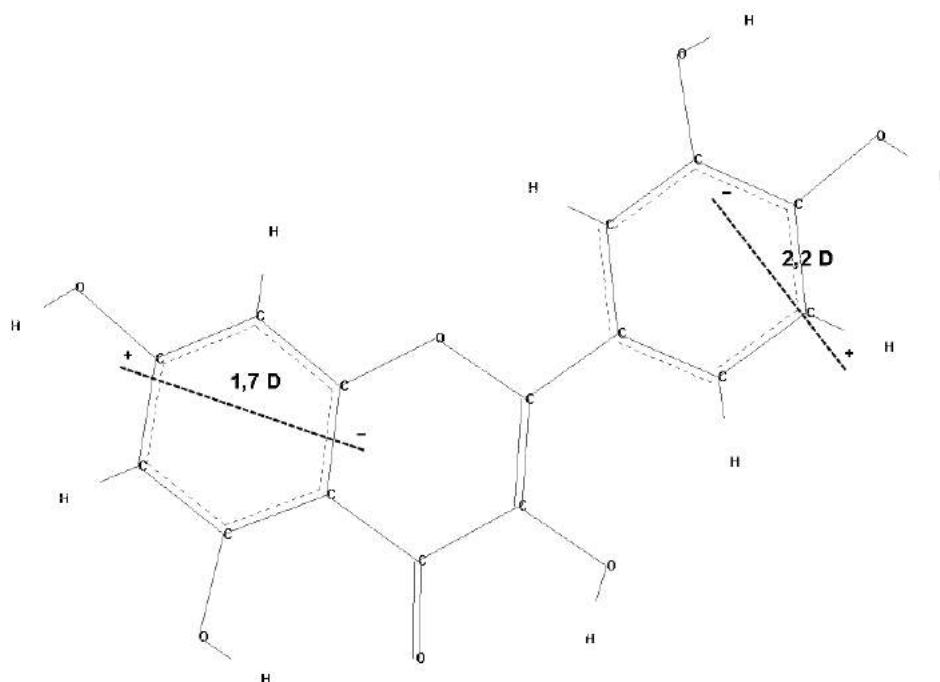


Рисунок 4 – Молекулярная структура кверцетина и направления дипольных моментов в разных участках молекулы (в частности А, С и В колец), полученные на основе полуэмпирического метода AM1 с использованием неограниченного метода Хартри-Фока (UHF) в приближении самосогласованного поля и алгоритма Полака-Риберики.

расчетных квантово-химических параметров, указывающих на антиоксидантную активность. Мы предполагаем, что это связано с разной полярностью и, как следствие, с локализацией исследуемых полифенолов в клетке. Катехин бла-

годаря хорошей растворимости в воде может находиться в цитоплазме клетки, кверцетин неполярен и гидрофобен, локализован в мембранном бислое эритроцитов. Оцененные нами значения IC_{50} кверцетина = $9,74 \pm 0,8$ мкМ; IC_{50} катехина =

8,84±0,7 мкМ; IC₅₀ нарингенина = 46,8±4,4 мкМ.

В пользу данного предположения свидетельствуют квантово-химические расчеты: дипольный момент кверцетина – 0,986 D. Наиболее низкая растворимость кверцетина в воде, несмотря на наличие поляризованных гидроксильных групп, связана с его стремлением к планарной конфигурации. Молекулярное моделирование в вакууме показало, что структура кверцетина плоская, торсионный угол C3-C2-C1'-C2' ≈ 180°, благодаря наличию в структуре двойной связи C2=C3. Вследствие этого у молекулы более выражена способность к резонансу, а дипольный момент поляризуемых гидроксильных группировок колец А-В и С по краям молекулы противоположно направлен и взаимокompенсируется – молекула получается неполярной (рис. 4), в результате кверцетин гидрофобен и плохо растворяется в воде – 0,512 мг/л [18].

Катехин и нарингенин, не имеющие в составе центрального гетероцикла С двойной связи C2=C3, обладают изогнутой в пространстве структурой, их торсионные углы ≈ 117,5° и 83° соответственно. Дипольный момент, согласно полуэмпирической модели AM1, нарингенина – 1,6 D и у катехина – 2,1 D. Эти молекулы более

полярные, более гидрофильные и значительно лучше растворяются в воде: растворимость нарингенина – 4,38 мг/л [30], катехина – более 2260 мг/л [31].

Далее мы изучали окисление внутриклеточного восстановленного глутатиона (GSH), индуцируемое ТБГП (рис. 5). Уровень глутатиона в контрольных эритроцитах составлял 2,03±0,07 мкМ. Внесение ТБГП снижало это значение до 0,24±0,03 мкМ. Флавоноиды препятствовали истощению собственного антиоксиданта эритроцитов – GSH, однако эффект был не настолько выражен, как при ингибировании перекисного окисления липидов. Вероятно, это связано с различным расположением субстратов окисления (глутатион локализован в цитоплазме клетки). Ранее Holger A. Scheidt et al. показали, что антиоксидантные свойства флавоноидов связаны с расположением молекул в мембране [32]. Протекторный эффект флавоноидов связан с ингибированием радикальных процессов и снижением общего уровня окислителя.

Результаты исследований показали высокую эффективность флавоноидов в ингибировании перекисного окисления трет-бутилгидропероксидом клеточных структур

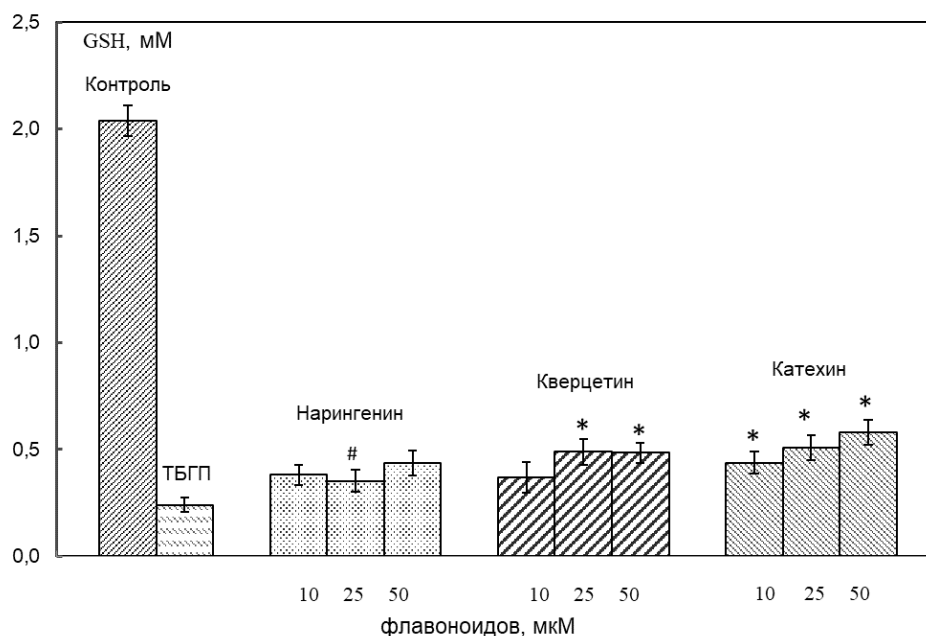


Рисунок 5 – Уровень восстановленного глутатиона (GSH) в эритроцитах (10% гематокрита в PBS) при воздействии ТБГП (700 мкМ) в присутствии кверцетина, катехина и нарингенина. Эритроциты подвергали воздействию окислителя в течение 5 мин при 25°C, pH 7,4, в отсутствие или в присутствии различных концентраций кверцетина, катехина и нарингенина: * – p<0,05 по сравнению с эритроцитами, подвергавшимися воздействию ТБГП в отсутствие флавоноидов; # – p<0,05 по сравнению с эритроцитами, подвергавшимися воздействию ТБГП в присутствии аналогичной концентрации других флавоноидов.

эритроцитов, вместе с тем, поскольку ТБГП-индуцируемое перекисное окисление ассоциировано с радикальными реакциями, можно сделать вывод, что изучаемые полифенолы проявляют также радикал скевнджерный эффект и взаимодействуют с образующимися в реакции Фентона гидроксидными и липоксильными радикалами по механизму S_R (радикального замещения). Как мы полагаем, этому способствует сильная поляризация гидроксильных групп самих флавоноидов и система π , p – сопряженных связей, стабилизирующая феноксильный радикал, вместе с тем результаты квантово-химических расчетов тоже указывают на высокий восстановительный потенциал данных полифенолов.

2. Молекулярное моделирование структуры нарингенина, кверцетина и катехина

На следующем этапе мы провели молекулярное моделирование структуры нарингенина, кверцетина и катехина на основе квантово-химических расчетов. Наши исследования были направлены на выяснения взаимосвязи биологической активности с квантово-химическими параметрами молекулы изучаемого соединения.

Компьютерное моделирование сегодня составляет неотъемлемую часть биохимических исследований и фармакологических разработок. С его помощью можно прогнозировать биологическую активность до начала исследования, тем самым сохраняя время и сокращая расходы, а

Таблица 1 – Квантово-химические параметры нарингенина, кверцетина, катехина

Параметры		Нарингенин	Кверцетин	(+)-Катехин
AM1 UHF				
Total Energy, kcal/mol	Общая энергия, ккал/моль	-85033.734	-99164.773	-93070.182
Binding Energy, kcal/mol	Энергия связи, ккал/моль	-3640.1191	-3717.6003	-3861.3785
Electronic Energy, kcal/mol	Электронная энергия, ккал/моль	-513116.213	-601021.934	-597927.181
Core-Core Interaction, kcal/mol	Межъядерное взаимодействие, ккал/моль	428082.479	501857.160	504856.998
Heat of Formation, kcal/mol	Теплота образования, ккал/моль	-153.750	-216.317	-211.247
Dipole Moment, D	Дипольный момент, Д	1.602	0.986	2.107
QSAR свойства				
Volume, Å ³	Объем, Å ³	736.63	753.52	764.33
Refractivity	Преломляющая способность	70.43	75,43	72.85
Polarizability	Поляризуемость	27.46	28,54	28.65
Hydration energy, kcal/mol	Энергия гидратации, ккал/моль	-22.97	-32.53	-31.12
Ab initio UHF (6-31G)				
Total Energy, kcal/mol	Общая энергия, ккал/моль	-595475.529	-688649.201	-643136.529
Electronic Kinetic Energy, kcal/mol	Электронная кинетическая энергия, ккал/моль	595905.901	689036.745	643608.533
Nuclear Repulsion Energy, kcal/mol	Ядерная энергия отталкивания, ккал/моль	921051.841	1082078.151	1061122.122
E(HOMO), eV -	E(ВЗМО), эВ	-8.8522	-8.2381	-8.5807
E(LUMO), eV +	E(НСМО), эВ	2.0381	1.2298	3.4953
$\Delta E = E(\text{HOMO}) - E(\text{LUMO})$, eV	$\Delta E = E(\text{ВЗМО}) - E(\text{НСМО})$, эВ	-10.8903	-9.4679	-12.0760
Lowest Level Energy, eV	Самый низкий уровень энергии, эВ	-560.8093	-562.0288	-560.6712
Highest Level Energy, eV	Самый высокий уровень энергии, эВ	67.5845	69.2557	69.6014

также интерпретировать результаты экспериментальных исследований.

Полученные результаты экспериментальных исследований антиоксидантной активности флавоноидов хорошо согласуются с расчётными квантово-химическими данными (табл. 1). У кверцетина наименьшая энергия возбуждения молекулы, т.е. энергия, условно необходимая для прохождения химической реакции. ВЗМО – высшая занятая молекулярная орбиталь, или орбиталь с самой высокой энергией электронов. ВЗМО хорошо отражает восстановительный потенциал вещества и позывает способность системы донировать электроны. Чем выше значение энергии ВЗМО, тем лучше молекула будет себя проявлять в качестве восстановителя. Полученные величины указывают на хороший восстановительный потенциал исследуемых флавоноидов, однако наивысшее значение имеет кверцетин, он же лучше всего проявлял цитопротекторный эффект при окислительном стрессе. Значения энергии ВЗМО изменяются в ряду флавоноидов: Que>Cat>Nar. НСМО – самая низкая свободная молекулярная орбиталь или самая низкая энергия орбитали без электронов. Энергия НСМО указывает на сродство к электрону и способность к акцепторным свойствам в окислительно-восстановительной реакции. Значения данных энергий невысоки, и сами по себе восстановленные полифенолы не проявляют окислительных свойств.

Расположение высшей заполненной молекулярной орбитали и низшей свободной молекулярной орбитали в исследуемом ряду флавоноидов локализовано преимущественно в кольце В (рис. 6). Следовательно, гидроксильные группировки именно В кольца в первую очередь вступают в редокс реакции с образованием феноксильных радикалов (полухинонов) и хинонметидов. Однако стоит отметить, что в молекуле кверцетина наиболее делокализованы высшая заполненная и низшая свободная молекулярные орбитали, поэтому кверцетин наиболее хорошо проявляет себя как антиоксидант в ряду изучаемых флавоноидов. Таким образом, структура молекулы кверцетина позволяет увеличить стабильность производных, образующихся в реакциях со свободными радикалами, и уменьшать их электрон-акцепторные свойства, благодаря возможности делокализации неспаренного электрона по всей молекуле. Причиной такого распределения орбиталей является наличие мезомерного эффекта π -орбиталей sp^2 -гибридизированных атомов

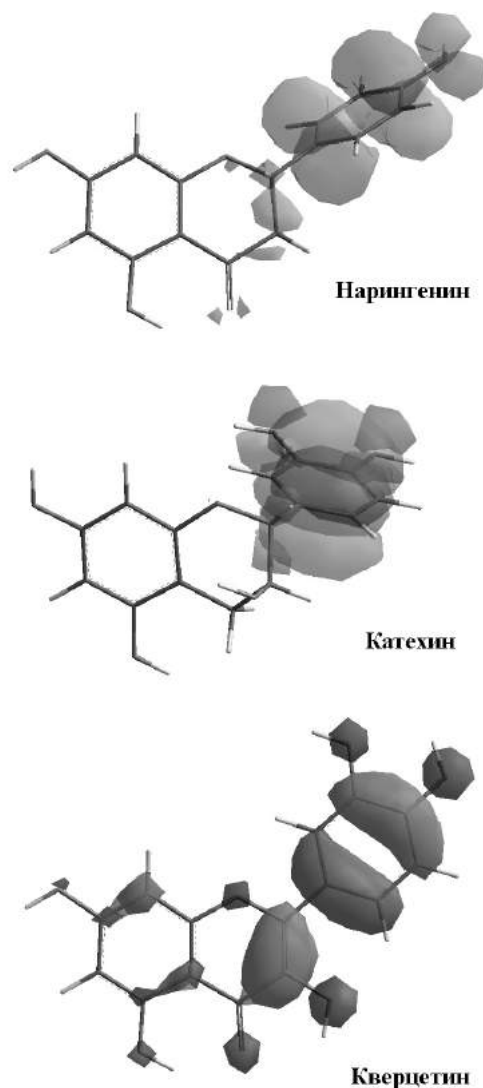


Рисунок 6 – Молекулярные структуры кверцетина, катехина, нарингенина с локализацией орбиталей ВЗМО – НСМО, рассчитанные в программе HyperChem 8.0 [22] на основе неэмпирического метода Ab initio 6-31G и неограниченного метода Хартри-Фока (Unrestricted Hartree-Fock method, UHF) в приближении самосогласованного поля и алгоритма Полака-Риберики.

углерода в гетероцикле кверцетина. Ранее нами более подробно был рассмотрен механизм окисления кверцетина [33].

На основе наших исследований можно сделать заключение: количество гидроксильных групп в молекулах флавоноидов напрямую коррелирует с их антиоксидантной активностью. На карте распределения электронной плотности кверцетина (рис. 7) видно, что на атомах кислорода карбонильной и гидроксильных групп, а также атоме кислорода гетероцикла локализована наи-

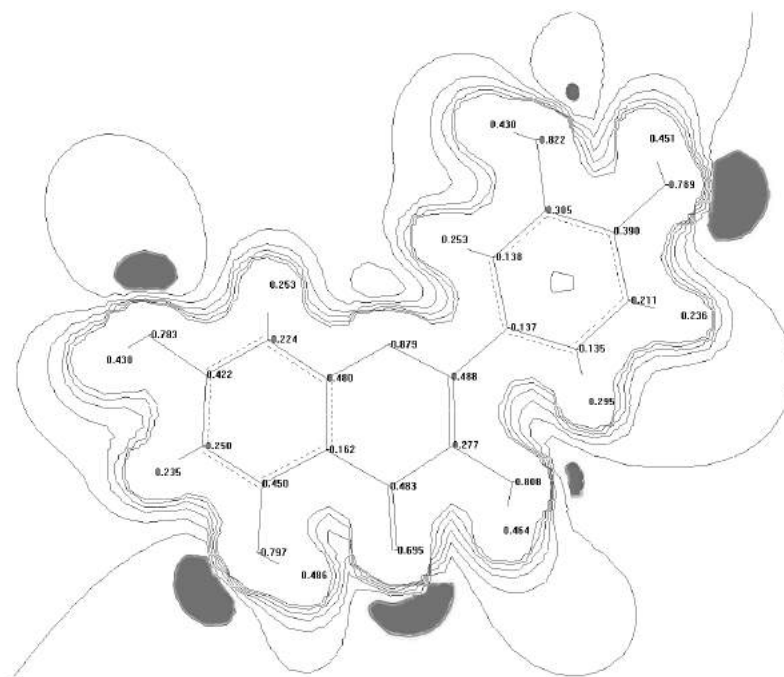


Рисунок 7 – Электростатическая карта распределения электронной плотности оптимизированной структуры кверцетина, полученная в программе HyperChem 8.0 [22] с применением неэмпирического метода *Ab initio* с базисом 6-31G и с использованием неограниченного метода Хартри-Фока (Unrestricted Hartree-Fock method, UHF) в приближении самосогласованного поля и алгоритма Полака-Риберики с расчетными эффективными зарядами атомов.

большая электроотрицательность. Данные группы проявляют отрицательный индукционный эффект в молекуле и стягивают на себя электронную плотность, электроотрицательные центры для нуклеофильных атак (на рисунке 7 темные области) и могут способствовать реакциям электрофильного замещения.

Вместе с тем в структуре флавоноидов имеются ароматические кольца с замкнутой системой сопряженных связей, из-за чего часть электронной плотности может перераспределяться в молекуле, а гидроксильные группы в сопряжении оказывают положительный мезомерный эффект (что видно по наличию чередующихся электроотрицательных атомов углерода в бензольного кольца А) и способствуют повышению потенциала ионизации и восстановительных свойств. Следует отметить, что флавоноиды являются хорошими антиоксидантами не только за счет гидроксильных групп, которые выступают реакционными центрами в окислительно-восстановительных реакциях, но благодаря наличию в молекуле цепи сопряженных связей, которые, как и все ненасыщенные углеводороды, аккумулируют восстановительный потенциал и при избытке

окислителя могут вступать в реакции окисления с деструкцией бензольных колец [34]. Система сопряженных связей полифенолов является ключевым звеном в обеспечении радикал скевенджерных эффектов, при радикальном взаимодействии флавоноиды снижают реактивность образуемых радикалов, перераспределяя энергию при помощи π -электронов ароматических колец по всей молекуле.

Из-за высокой электроотрицательности и выраженных электроакцепторных свойств кислорода происходит смещение электронной плотности менее электрофильных атомов к кислороду. Расчеты электростатической карты распределения электронной плотности кверцетина (рис. 7) указывают на большие значения отрицательных зарядов кислорода гидроксильных групп, при этом связь в ОН-группах сильно поляризованная, из-за чего протон водорода в нейтральной и щелочной среде может легко отрываться и, как следствие, молекулы флавоноидов могут проявлять кислотные свойства. Также из электростатической карты распределения электронной плотности видно, что гидроксильная группа у С2 атома углерода, несмотря на наличие наивысшей

электроотрицательности, находится в пространственно затрудненном положении для электрофильных взаимодействий.

Заключение

Флавоноиды, принадлежащие к различным классам, нарингенин, кверцетин, катехин, продемонстрировали выраженный антиоксидантный эффект в модельной системе *in vitro*. Флавоноиды эффективно ингибировали индуцируемое трет-бутилгидропероксидом перекисное окисление липидов мембран эритроцитов: IC_{50} кверцетина = $9,74 \pm 0,8$ мкМ; IC_{50} катехина = $8,84 \pm 0,7$ мкМ; IC_{50} нарингенина = $46,8 \pm 4,4$ мкМ, и в меньшей степени предотвращали окисление восстановленного глутатиона в эритроцитах.

Анализ квантово-химических расчетов антиоксидантной активности и оптимизированных конформаций полифенолов позволяет сделать вывод, что гидроксильные группы в молекулах флавоноидов отвечают за проявление антиоксидантной активности. Можно предположить, что наличие сильной поляризации гидроксильных групп флавоноидов и π , p – системы связи сопряженных гибридных орбиталей способствует проявлению восстановительных свойств полифенолов, стабилизации и снижению реакционной семихинонов и феноксильных радикалов в радикал сквенджерных реакциях, проявлению флавоноидами кислотных свойств и диссоциации в нейтральных растворах.

Квантово-химические расчеты структуры и электронных свойств молекул флавоноидов показали, что молекула кверцетина практически планарна – торсионный угол $C3-C2-C1'-C2'$ равен 180° , отсутствие двойной связи $C2=C3$ в молекулах катехина и нарингенина приводит к нарушению планарности. Высшая занятая и низшая свободная молекулярные орбитали исследованных флавоноидов локализованы преимущественно в кольце В. Гидроксильные группировки кольца В в первую очередь вступают в редокс-реакции с образованием феноксильных радикалов (семихинонов) и хинонметидов.

В нашем эксперименте кверцетин проявил себя как наиболее эффективный антиоксидант в ряду кверцетин > катехин > нарингенин. Молекулярное моделирование показало, что у кверцетина наиболее делокализованы ВЗМО и НСМО, такая организация позволяет увеличить стабильность производных кверцетина, образу-

ющихся в реакциях со свободными радикалами и в то же время снизить их акцепторные свойства, благодаря возможности делокализации неспаренного электрона по всей молекуле. Причиной такого распределения орбиталей является наличие мезомерного эффекта π -орбиталей sp^2 -гибридизированных атомов углерода в гетероцикле кверцетина.

Литература

1. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress / J. Frijhoff [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2015 Nov. – Vol. 23, N 14. – P. 1144–1170.
2. Griendling, K. K. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS / K. K. Griendling, G. A. FitzGerald // *Circulation.* – 2003 Oct. – Vol. 108, N 16. – P. 1912–1916.
3. Ischiropoulos, H. Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect, or association? / H. Ischiropoulos, J. S. Beckman // *J. Clin. Invest.* – 2003 Jan. – Vol. 111, N 2. – P. 163–169.
4. Ceriello, A. Oxidative stress and diabetes-associated complications / A. Ceriello // *Endocr. Pract.* – 2006 Jan-Feb. – Vol. 12, suppl. 1. – P. 60–62.
5. eNOS uncoupling in cardiovascular diseases-the role of oxidative stress and inflammation / S. Karbach [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2014. – Vol. 20, N 22. – P. 3579–3594.
6. Reactive oxygen species: from health to disease / K. Brieger [et al.] // *Swiss Med. Wkly.* – 2012 Aug. – Vol. 142. – w13659.
7. Antidepressant Flavonoids and Their Relationship with Oxidative Stress / L. Hritcu [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 1–18.
8. Winkel-Shirley, B. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology / B. Winkel-Shirley // *Plant Physiol.* – 2001 Jun. – Vol. 126, N 2. – P. 485–493.
9. Novel O-alkyl Derivatives of Naringenin and Their Oximes with Antimicrobial and Anticancer Activity / J. Kozłowska [et al.] // *Molecules.* – 2019 Feb. – Vol. 24, N 4. – P. 679.
10. Fuhr, U. Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP1A2 dependent metabolism of caffeine in man / U. Fuhr, K. Klittich, A. H. Staib // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 1993 Apr. – Vol. 35, N 4. – P. 431–436.
11. Hernández-Aquino, E. Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms / E. Hernández-Aquino, P. Muriel // *World J. Gastroenterol.* – 2018 Apr. – Vol. 24, N 16. – P. 1679–1707.
12. Mangels, D. R. Catechins as potential mediators of cardiovascular health / D. R. Mangels, E. R. Mohler // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2017 May. – Vol. 37, N 5. – C. 757–763.
13. Bernatoniene, J. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress / J. Bernatoniene, D. M. Kopustinskiene // *Molecules.* – 2018 Apr. – Vol. 23, N 4. – P. 965.
14. Abdelkawy, K. S. A new validated HPLC method for the determination of quercetin: Application to study pharmacokinetics in rats / K. S. Abdelkawy, M. E. Balyshev, F. Elbarbry // *Biomed. Chromatogr.* – 2017 Mar. – Vol. 31, N 3. – e3819.

15. Eid, H. M. The Antidiabetic Potential of Quercetin: Underlying Mechanisms / H. M. Eid, P. S. Haddad // *Curr. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 24, N 4. – P. 355–364.
16. D'Andrea, G. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? / G. D'Andrea // *Fitoterapia.* – 2015 Oct. – Vol. 106. – P. 256–271.
17. Investigation of the anti-cancer effect of quercetin on HepG2 cells in vivo / J. Zhou [et al.] // *PLoS One.* – 2017 Mar. – Vol. 12, N 3. – e0172838.
18. Bioactivity In Vitro of Quercetin Glycoside Obtained in *Beauveria bassiana* Culture and Its Interaction with Liposome Membranes / P. Strugała [et al.] // *Molecules.* – 2017 Sep. – Vol. 22, N 9. – P. 1520.
19. Вейко, А. Г. Компьютерное моделирование структуры и свойств биологически активных соединений и лекарственных препаратов. Фармакология in silico / А. Г. Вейко // *Новости мед.-биол. наук.* – 2019. – Т. 19, № 3. – С. 117–132.
20. Stocks, J. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide / J. Stocks, T. L. Dormandy // *Br. J. Haematol.* – 1971 Jan. – Vol. 20, N 1. – P. 95–111.
21. Akerboom, T. P. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples / T. P. Akerboom, H. Sies // *Methods Enzymol.* – 1981. – Vol. 77. – P. 373–382.
22. Chemistry Software, HyperChem, Molecular Modeling [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.hyper.com/>. – Date of access: 27.10.2020.
23. Onishi, T. Quantum Computational Chemistry: Modelling and Calculation for Functional Materials / T. Onishi. – Singapore : Springer, 2018. – 290 p.
24. Babaie-Kafaki, S. A descent extension of the Polak–Ribière–Polyak conjugate gradient method / S. Babaie-Kafaki, R. Ghanbari // *Comput. Math. Appl.* – 2014 Dec. – Vol. 68, N 12, part A. – P. 2005–2011.
25. Campbell, M. J. Medical Statistics: A Textbook for the Health Sciences / M. J. Campbell, D. Machin, S. J. Walters. – Hoboken, NJ, United States : John Wiley & Sons, 2010. – 347 p.
26. The Effect of tert-Butyl Hydroperoxide-Induced Oxidative Stress on Lean and Steatotic Rat Hepatocytes In Vitro / O. Kučera [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 752506.
27. Enami, S. Fenton chemistry at aqueous interfaces / S. Enami, Y. Sakamoto, A. J. Colussi // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2014 Jan. – Vol. 111, N 2. – P. 623–628.
28. Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study / M. N. Sarian [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 8386065.
29. Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence / E. G. Yordi [et al.] // *Nutrition, well-being and health / ed.: J. Bouayed, T. Bohn. – Rijeka : InTech; 2012. – P. 23–48.*
30. Preparation and Physicochemical Properties of the Complex of Naringenin with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin / J. Wen [et al.] // *Molecules.* – 2010 Jun. – Vol. 15, N 6. – P. 4401–4407.
31. Solubility of Gallic Acid, Catechin, and Protocatechuic Acid in Subcritical Water from (298.75 to 415.85) K / K. Srinivas [et al.] // *J. Chem. Eng. Data.* – 2010. – Vol. 55, N 9. – P. 3101–3108.
32. Investigation of the membrane localization and distribution of flavonoids by high-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy / H. A. Scheidt [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Biomembr.* – 2004 May. – Vol. 1663, N 1/2. – P. 97–107.
33. Квантово-химическое моделирование электронной структуры кверцетина и ингибирование кверцетином и комплексом кверцетин-гидроксипропил- β -циклодекстрина перекисного окисления липидов в митохондриях и эритроцитах крыс / А. Г. Вейко [и др.] // *Изв. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук.* – 2018. – Т. 63, № 4. – С. 500–512.
34. Кинетика пероксидазного окисления кверцетина в присутствии Р-циклодекстрина / Л. И. Олейник [и др.] // *Вест. Моск. ун-та. Сер. 2, Химия.* – 2011. – Т. 52, № 3. – С. 199–203.

Поступила 14.07.2020 г.

Принята в печать 19.10.2020 г.

References

1. Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D, et al. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2015 Nov;23(14):1144-70. doi: 10.1089/ars.2015.6317
2. Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation.* 2003 Oct;108(16):1912-6. doi: 10.1161/01.CIR.0000093660.86242.BB
3. Ischiropoulos H, Beckman JS. Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect, or association? *J Clin Invest.* 2003 Jan;111(2):163-9. doi: 10.1172/JCI17638
4. Ceriello A. Oxidative stress and diabetes-associated complications. *Endocr Pract.* 2006 Jan-Feb;12 Suppl 1:60-2. doi: 10.4158/EP.12.S1.60
5. Susanne Karbach, Philip Wenzel, Ari Waisman, Thomas Munzel, Andreas Daiber. eNOS uncoupling in cardiovascular diseases-the role of oxidative stress and inflammation. *Curr Pharm Des.* 2014;20(22):3579-94. doi: 10.2174/13816128113196660748
6. Brieger K, Schiavone S, Miller FJ, Krause K-H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly.* 2012 Aug;142:w13659. doi: 10.4414/smww.2012.13659.eCollection 2012.
7. Hritcu L, Ionita R, Postu PA, Gupta GK, Turkez H, Lima TC, Uchôa C, et al. Antidepressant Flavonoids and Their Relationship with Oxidative Stress. *Oxid Med Cell. Longev.* 2017;2017(118). doi: 10.1155/2017/5762172
8. Winkel-Shirley B. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiol.* 2001 Jun;126(2):485-93. doi: 10.1104/pp.126.2.485
9. Kozłowska J, Grela E, Baczyńska D, Grabowiecka A, Anioł M. Novel O-alkyl Derivatives of Naringenin and Their Oximes with Antimicrobial and Anticancer Activity. *Molecules.* 2019 Feb;24(4):679. doi: 10.3390/molecules24040679
10. Fuhr U, Klittich K, Staib AH. Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP1A2 dependent metabolism of caffeine in man. *Br J Clin Pharmacol.* 1993 Apr;35(4):431-6. doi: 10.1111/j.1365-2125.1993.tb04162.x.
11. Hernández-Aquino E, Muriel P. Beneficial effects of

- naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms. *World J Gastroenterol*. 2018 Apr;24(16):1679-1707. doi: 10.3748/wjg.v24.i16.1679
12. Mangels DR, Mohler ER. Catechins as potential mediators of cardiovascular health. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017 May;37(5):757-763. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309048
 13. Bernatoniene J, Kopustinskiene DM. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. *Molecules*. 2018 Apr 20;23(4):965. doi: 10.3390/molecules23040965
 14. Abdelkawy KS, Balyshev ME, Elbarbry F. A new validated HPLC method for the determination of quercetin: Application to study pharmacokinetics in rats. *Biomed Chromatogr*. 2017 Mar;31(3). doi: 10.1002/bmc.3819
 15. Eid HM, Haddad PS. The Antidiabetic Potential of Quercetin: Underlying Mechanisms. *Curr Med Chem*. 2017;24(4):355-364. doi: 10.2174/0929867323666160909153707
 16. D'Andrea G. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*. 2015 Oct;106:256-71. doi: 10.1016/j.fitote.2015.09.018
 17. Zhou J, Fang L, Liao J, Li L, Yao W, Xiong Z, et al. Investigation of the anti-cancer effect of quercetin on HepG2 cells in vivo. *PLoS One*. 2017 Mar;12(3):e0172838. doi: 10.1371/journal.pone.0172838
 18. Strugała P, Tronina T, Huszcza E, Gabrielska J. Bioactivity In Vitro of Quercetin Glycoside Obtained in *Beauveria bassiana* Culture and Its Interaction with Liposome Membranes. *Molecules*. 2017 Sep;22(9):1520. doi: 10.3390/molecules22091520
 19. Veiko AG. Computer modeling of the structure and properties of biologically active compounds and drugs. *Pharmacology in silico*. *Novosti Med-Biol Nauk*. 2019;19(3):117-32. (In Russ.)
 20. Stocks J, Dormandy TL. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Br J Haematol*. 1971 Jan;20(1):95-111. doi: 10.1111/j.1365-2141.1971.tb00790.x
 21. Akerboom TP, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol*. 1981;77:373-82. doi: 10.1016/s0076-6879(81)77050-2
 22. Chemistry Software, HyperChem, Molecular Modeling. Available from: <http://www.hyper.com/> [Accessed 27 Oct 2020]
 23. Onishi T. Quantum Computational Chemistry: Modelling and Calculation for Functional Materials. Singapore: Springer; 2018. 290 p.
 24. Babaie-Kafaki S, Ghanbari R. A descent extension of the Polak-Ribière-Polyak conjugate gradient method. *Comput Math Appl*. 2014 Dec;68(12 Part A):2005-11. doi: 10.1016/j.camwa.2014.09.019
 25. Campbell MJ, Machin D, Walters SJ. *Medical Statistics: A Textbook for the Health Sciences*. Hoboken, NJ, United States: John Wiley & Sons; 2010. 347 p.
 26. Kučera O, Endlicher R, Roušar T, Lotková H, Garnol T, Drahotka Z, et al. The Effect of tert-Butyl Hydroperoxide-Induced Oxidative Stress on Lean and Steatotic Rat Hepatocytes In Vitro. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:752506. doi: 10.1155/2014/752506
 27. Enami S, Sakamoto Y, Colussi AJ. Fenton chemistry at aqueous interfaces. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Jan;111(2):623-8. doi: 10.1073/pnas.1314885111
 28. Sarian MN, Ahmed QU, So'ad SZM, Alhassan AM, Murugesu S, Perumal V, et al. Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study. *Biomed Res Int*. 2017;2017:8386065. doi: 10.1155/2017/8386065
 29. Yordi EG, Pérez EM, Matos MJ, Villares EU. Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. In: Bouayed J, Bohn T, editors. *Nutrition, well-being and health*. Rijeka: InTech; 2012. P.23-48. doi: 10.5772/29471
 30. Wen J, Liu B, Yuan E, Ma Y, Yongyi Z. Preparation and Physicochemical Properties of the Complex of Naringenin with Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin. *Molecules*. 2010 Jun;15(6):4401-7. doi: 10.3390/molecules15064401
 31. Srinivas K, King JW, Howard LR, Monrad JK. Solubility of Gallic Acid, Catechin, and Protocatechuic Acid in Subcritical Water from (298.75 to 415.85) K. *J Chem Eng Data*. 2010;55(9):3101-8. doi: 10.1021/je901097n
 32. Scheidta HA, Pampel A, Nissler L, Gebhardt R, Huster D. Investigation of the membrane localization and distribution of flavonoids by high-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy. *Biochim Biophys Acta (BBA) – Biomembr*. 2004 May;1663(1-2): 97-107. doi: 10.1016/j.bbamem.2004.02.004
 33. Veiko AG, Ilich TV, Lapshina EA, Buko VU, Zavadnik IB. Quantum-chemical modeling of the electronic structure of quercetin and inhibition of lipid peroxidation in mitochondria and erythrocytes of rats by quercetin and the quercetin-hydroxypropyl-β-cyclodextrin complex. *Izv Nats Akad Nauk Belarusi Ser Biol Nauk*. 2018;63(4):500-12. (In Russ.)
 34. Oleinik LI, Buslova TS, Veselova IA, Shekhovtcova TN. Kinetics of peroxidase oxidation of quercetin in the presence of P-cyclodextrin. *Vest Mosk Un-ta Ser 2 Khimiia*. 2011;52(3):199-203. (In Russ.)

Submitted 14.07.2020

Accepted 19.10.2020

Сведения об авторах:

Вейко А.Г. – аспирант кафедры биохимии, Гродненский государственный университет им. Янки Купалы.

Information about authors:

Veiko A.G. – postgraduate of the Chair of Biochemistry, Grodno State University named after Yanka Kupala.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230030, г. Гродно, 6-й Ленинского Комсомола, 50, Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, кафедра биохимии. E-mail: Wei93@yandex.ru – Вейко Артем Геннадьевич.

Correspondence address: Republic of Belarus, 230030, Grodno, 50 Leninskogo Komsomola blvd., Grodno State University named after Yanka Kupala, Chair of Biochemistry. E-mail: Wei93@yandex.ru – Artem G. Veiko.